FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1908

THÈSE

N° 396

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le mercredi 22 Juillet 1908, à 1 heure

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

SUR L'ANTAGONISME DU

Bacille pyocyanique et du Bacille charbonneux

PAR

V. DELARBRE

Président : M. ROGER, *Professeur*

Juges : MM. BRISSAUD, Marcel LABBÉ, LŒPER, *Agrégés*

PARIS
LIBRAIRIE DES FACULTÉS DE MÉDECINE
OLLIER-HENRY
8, Rue Casimir-Delavigne, 8

1908

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Doyen	M. LANDOUZY.
Professeurs	MM.
Anatomie	NICOLAS.
Physiologie	Ch. RICHET.
Physique médicale	GARIEL.
Chimie organique et chimie générale	GAUTIER.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BLANCHARD.
Pathologie et thérapeutique générales	BOUCHARD.
Pathologie médicale	BRISSAUD. DEJERINE.
Pathologie chirurgicale	LANNELONGUE.
Anatomie pathologique	PIERRE MARIE
Histologie	PRENANT.
Opérations et appareils	QUENU.
Pharmacologie et matière médicale	POUCHET.
Thérapeutique	GILBERT.
Hygiène	CHANTEMESSE
Médecine légale	THOINOT.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	GILBERT-BALLET.
Pathologie expérimentale et comparée	ROGER.
Clinique médicale	HAYEM. DIEULAFOY. DEBOVE. LANDOUZY.
Maladies des enfants	HUTINEL.
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale	JOFFROY.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GAUCHER.
Clinique des maladies du système nerveux	RAYMOND.
Clinique chirurgicale	LE DENTU. BERGER RECLUS. SEGOND.
Clinique ophtalmologique	de LAPERSONNE.
Clinique des maladies des voies urinaires	ALBARRAN.
Clinique d'accouchements	PINARD. BAR.
Clinique gynécologique	POZZI.
Clinique chirurgicale infantile	KIRMISSON.
Clinique thérapeutique	Albert ROBIN.

Agrégés en exercice :

MM.	MM.	MM.	MM.
AUVRAY.	COUVELAIRE.	LANGLOIS.	NICLOUX.
BALTHAZAR.	CUNEO.	LAUNOIS.	NOBECOURT.
BRANCA.	DEMELIN.	LECENE.	OMBREDANE.
BEZANÇON Fernand	DESGREZ.	LEGRY.	POTOCKI.
BRINDEAU.	DUVAL Pierre.	LENORMANT.	PROUST.
BROCA André.	GOSSET.	LOEPER.	RENON.
BRUMPT.	GOUGET.	MACAIGNE.	RICHAUD.
CARNOT.	JEANNIN.	MAILLARD.	SICARD.
CASTAIGNE.	JEANSELME.	MARION.	ZIMMERN.
CLAUDE.	JOUSSET André.	MORESTIN.	
	LABBE Marcel.	MULON.	

Chef des Travaux anatomiques : M. RIEFFEL

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

Recherches expérimentales sur l'antagonisme du Bacille pyocyanique et du Bacille charbonneux

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE REGRETTÉ

A MA MÈRE

qui, par son dévouement, m'a permis de terminer mes études, témoignage de reconnaissance et de filiale affection.

A MES FRÈRES

A TOUS LES AUTRES MEMBRES DE MA FAMILLE

MEIS ET AMICIS

J'offre la dédicace de cette thèse modeste

A MONSIEUR LE PROFESSEUR RAPPIN

Directeur de l'Institut Pasteur de Nantes

A MONSIEUR LE DOCTEUR FORTINEAU

Chef de Travaux Pratiques à l'École de Médecine
de Nantes
qui a bien voulu nous donner le sujet de cette thèse

A MONSIEUR LE DOCTEUR BERRUYER

Médecin municipal
Chevalier de la Légion d'Honneur
En souvenir de ses bons et paternels conseils

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

AUX PROFESSEURS
DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE DE NANTES

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR ROGER

Professeur de Pathologie comparée et expérimentale

Médecin de l'Hôpital de la Charité

AVANT-PROPOS

On sait que si l'on sème dans un milieu déjà épuisé par une culture, et après filtration, un autre microbe, le nouveau venu, non seulement ne trouvera pas les éléments nécessaires à sa vie, mais que, au contraire, les ptomaïnes du premier empêcheront, ou tout au moins retarderont dans une très notable mesure son développement.

Si nous jetons les yeux sur un tableau comparatif des différents germes semés dans des bouillons déjà épuisés, nous voyons que le Bacille pyocyanique, le Bacillus phosphorescens, la Spirille du Choléra asiatique, empêchent, affaiblissent ou retardent la culture de presque tous les germes.

Nous pouvons de ce fait tirer cette conclusion générale, en assimilant l'organisme humain à un bouillon de culture, que lorsqu'un microbe, poussant bien sur les différents milieux, est fortement entravé dans sa croissance par l'influence d'une autre bactérie, c'est qu'il y a entre elles un antagonisme réel.

D'ailleurs depuis longtemps on avait remarqué que la virulence d'un cadavre disparaissait sous l'influence de la putréfaction, fait dont **Cantani** s'efforça de tirer parti en opposant, sans résultats bien appréciables d'ailleurs, le Bacillus termo au bacille tuberculeux.

Plus intéressants sont les effets des microbes pathogènes les uns sur les autres ; l'action de la vaccine sur la variole en est un exemple curieux.

Nombre d'auteurs ont étudié la question et ont obtenu des résultats fort importants :

Pasteur avait déjà constaté que les animaux vaccinés contre le choléra des poules étaient immunisés contre le charbon.

Emmerich opposa au bacille charbonneux le streptocoque de l'érysipèle. **Pawlowsky** lutta contre la même affection avec le pneumobacille de **Friedlander**, le staphylocoque doré et le Bacillus prodigiosus ; **Pavone** employa contre le charbon les inoculations préventives de bacille typhique (1).

L'emploi du ferment lactique et de la levure de bière en thérapeutique, la démonstration par M. le Professeur **Metchnikoff** du rôle empêchant ou favorisant de certains microbes dans le choléra ont accru l'importance des premières notions acquises dans cet ordre d'idées.

(1) Bouchard : *Les Microbes pathogènes*.

HISTORIQUE

Les recherches qui nous intéressent plus particulièrement ici sont celles effectuées sur l'antagonisme du bacille pyocyanique et du bacille charbonneux.

Les principaux auteurs qui se sont occupés de la question sont : MM. **Bouchard** (1) **Charrin**, **Wodhead** et **Cartwright Wood** (2) et **S. de Freudenreich** (3). Je dois donc, avant d'exposer le résultat des expériences que j'ai entreprises, rappeler brièvement les travaux des principaux auteurs sur ce sujet.

M. Bouchard inocule du bacille pyocyanique à des lapins et quelques heures après le bacille charbonneux. Il trouve que les succès sont plus nombreux si l'on inocule à l'animal une culture charbonneuse. Il est plus difficile en effet d'enrayer les effets d'une inoculation de sang charbonneux.

---

(1) Bouchard. — *Académie des Sciences 8 avril 1889, Les microbes pathogènes.*

(2) Woodhead et Cartwright Wood. — *Académie des Sciences 1889, page 985.*

(3) S. de Freudenreich. — *Annales Institut Pasteur 1888.*

Voici les résultats qu'il obtient :

I. — Inoculations de bacille pyocyanique quelques heures après l'inoculation du charbon :

A. — Lapin :

a) 17 inoculations de culture charbonneuse, puis de culture pyocyanique donnent :

10 guérisons ;
5 morts par charbon ;
2 morts sans charbon.

b) 9 inoculations de sang charbonneux, puis de culture pyocyanique donnent :

2 guérisons ;
1 mort par charbon ;
6 morts sans charbon.

20 témoins des deux expériences ont au contraire succombé au charbon.

B. — Cobaye :

a) 3 inoculations de culture charbonneuse, puis de culture pyocyanique donnent :

1 mort par charbon ;
2 morts sans charbon.

b) 3 inoculations de sang charbonneux, puis de culture pyocyanique donnent :

2 morts par charbon ;
1 mort sans charbon.

1 cobaye témoin meurt charbonneux à chaque expérience.

Donc, dans certains cas, la culture pyocyanique annihile l'action pathogène du charbon.

Les injections de *toxine pyocyanique* n'ont pas pour M. Bouchard le même effet : il n'obtient aucun résultat appréciable chez les lapins vaccinés avec la toxine pyocyanique, pas plus que chez les animaux traités ou inoculés en même temps avec les deux produits.

MM. Woodhead et **Cartwright Wood** arrivèrent au contraire à atténuer le charbon et même à guérir des lapins charbonneux en leur inoculant à plusieurs reprises des toxines pyocyaniques. Sur cinq lapins, ils obtinrent ainsi deux guérisons et trois survies de sept jours, neuf jours et vingt jours. La toxine employée était âgée de dix jours.

Les différents auteurs, MM. **Charrin, Woodhead** et **S. de Freudenreich** s'accordent à constater que le bacille pyocyanique n'agit pas directement sur le bacille charbonneux comme *parasiticide*, car ce dernier se développe normalement dans la toxine pyocyanique. (Freudenreich) et le bacille pyocyanique agit seulement en l'atténuant, mais sans le tuer (Charrin).

M. Bouchard, frappé de la dissemblance de ces résultats et de ceux obtenus par les auteurs anglais, reprit ses expériences en injectant à ses lapins des doses plus faibles de toxine pyocyanique (8, 4 ou 2 c. c. dans les veines) ou 1 c. c. sous la peau du côté opposé à celui de l'inoculation charbonneuse : les animaux succombèrent comme ceux des premières expériences.

Tel est, aussi résumé que possible, l'état actuel de la question. Dans une série d'expériences, ayant obtenu des résultats intéressants, concordants avec ceux des auteurs anglais, j'ai essayé de traiter des animaux charbonneux avec la toxine pyocyanique.

Mais je dois, avant de rendre compte de ces expériences, remercier ici particulièrement M. le docteur Fortineau, chef de travaux pratiques à l'Ecole de Nantes, qui a bien voulu me guider dans mes expériences, y collaborer, et me prêter ainsi le concours précieux de sa haute compétence.

PLAN

Voici, tout d'abord, quel plan nous avons choisi pour refaire toutes ces expériences :

1° Inoculer aux animaux d'expériences des cultures combinées, c'est-à-dire : ensemencer dans le même tube de bouillon du pyocyanique et du charbon ;

2° Inoculer aux animaux des cultures de charbon, faites dans du bouillon mélangé de toxine pyocyanique, afin d'avoir un charbon atténué ;

3° Injecter préventivement aux animaux de la toxine pyocyanique ;

4° Essayer de guérir des animaux charbonneux :

a) inoculés avec des cultures ;

b) inoculés avec des produits charbonneux en leur inoculant, un certain nombre d'heures après, la toxine pyocyanique ;

5° Mesurer la résistance à la maladie charbonneuse des animaux vaccinés contre le bacille pyocyanique.

6° Conclusions.

CHAPITRE I

Inoculations de cultures combinées

Ayant ensemencé le même jour, au même instant, un assez grand nombre de tubes de bouillon avec le bacille pyocyanique et la bactéridie charbonneuse, nous en avons sacrifié un, à l'effet d'étudier l'action exercée *in vitro* par le bacille pyocyanique sur le charbon.

Nous avons constaté, comme **M. Charrin**, que dans ces cultures mixtes les bacilles charbonneux sont rares, et ne tardent pas à prendre une forme irrégulière, leur profil devient sinueux, le corps du microbe présente des parties amincies, se colore mal et seulement par endroits, ce qui s'observe d'ailleurs dans les vieilles cultures de charbon, et, au bout d'un mois, on ne trouve plus que quelques rares bacilles, se présentant sous cet aspect. Enfin, chose très importante, on note également l'absence de sporulation.

L'inoculation de ces cultures mixtes a fourni les résultats suivants :

PREMIÈRE EXPÉRIENCE

Cultures de *2 jours* (bacille pyocyanique et bacille charbonneux associés).

Chaque animal reçoit 1/2 c. c. sous la peau :

2 cobayes résistent;

1 cobaye meurt en 3 mois, *sans charbon;*

2 cobayes meurent en 3 jours, avec charbon, ainsi que les 2 témoins.

Chacun de ces cobayes pesait entre 350 et 400 grammes.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE

Mêmes cultures de *4 jours*; mêmes doses.

1 cobaye meurt en 1 mois, *sans charbon*, abcès contenant du bacille pyocyanique;

2 cobayes meurent en 18 jours, *sans charbon, ni pyocyanique;*

1 cobaye meurt en 3 jours, avec du *pyocyanique* dans le sang et dans l'œdème sous-cutané.

TROISIÈME EXPÉRIENCE

Mêmes cultures de *8 jours;* mêmes doses :

I cobaye de 370 gr., *résiste;*

1 cobaye de 300 grammes meurt en 1 mois, avec du *pyocyanique* dans le sang.

QUATRIÈME EXPÉRIENCE

Mêmes cultures de *15 jours;* mêmes doses :

1 cobaye de 370 grammes *résiste;*

1 cobaye de 390 grammes meurt en 2 jours; bacille *pyocyanique* dans le sang.

CINQUIÈME EXPÉRIENCE

Mêmes cultures de *3 mois;* même dose :

1 cobaye de 500 grammes résiste.

SIXIÈME EXPÉRIENCE

Mêmes cultures de *2 jours;* injection de *3 gouttes* seulement sous la peau :

1 cobaye de 320 grammes meurt en 3 mois 1/2; le sang reste stérile;

1 témoin de 430 grammes meurt charbonneux en 7 jours.

En résumé : Sur 15 cobayes inoculés :

5 ont résisté complètement, soit 1/3;
6 ont résisté entre 18 jours et 3 mois;
4 sont morts comme les témoins en 2 ou 3 jours.

Mais il faut remarquer que, même chez ces derniers cobayes, nous n'avons jamais retrouvé dans le sang, l'œdème ou les organes *que du bacille pyocyanique*, à l'exclusion du bacille charbonneux. Il paraît donc probable que les animaux ont succombé les uns à l'infection, les autres à l'intoxication pyocyanique. Ces expériences montrent que non seulement le bacille charbonneux est désagrégé sous l'influence de l'autre microbe, mais qu'il est atténué. M. Charrin avait signalé ce fait; en employant 1/2 c. c. de bouillon de culture, il dit ne plus agir que par le bacille charbonneux, le bacille pyocyanique n'étant plus virulent à cette dose.

Mais nos expériences prouvent que l'on peut tuer des animaux avec cette quantité de culture : le maniement du bacille pyocyanique reste donc dangereux. Aussi serait-il plus intéressant d'atténuer le charbon au moyen de la *toxine pyocyanique.*

D'autre part, les cobayes ayant résisté ne sont pas vaccinés : l'un deux inoculé 2 mois après sa première inoculation avec 1/2 c. c. de culture charbonneuse succombe en 3 jours.

Les produits secrétés par ces cobayes ne semblent pas vaccinants : le liquide d'ascite de l'un d'eux injecté à la dose de 2 c. c. sous la peau d'un autre animal en même temps que 1/2 c. c. de charbon, mais dans un endroit différent, ne l'immunise pas.

CHAPITRE II

Cultures de charbon dans la toxine pyocyanique

Délaissant donc les cultures mixtes, nous avons expérimenté d'abord la culture de bacille charbonneux dans la toxine pyocyanique, puis les cultures de charbon additionnées de toxines : les toxines employées étaient âgées de 15 jours, les autres de 1 mois.

Elles ont été obtenues de la façon ordinaire : après avoir laissé pousser le bacille pyocyanique dans des ballons de 1 litre, pendant le temps indiqué, le liquide a été filtré par une bougie de porcelaine, au moyen de la pompe aspiratrice. Lorsque tout fut recueilli (cette filtration demande au moins 24 heures) le liquide a été réparti dans de petits ballons de 20 à 50 c. c. de capacité, stérilisés au préalable, et gardés après emplissage dans les caves du laboratoire, pour être employés au fur et à mesure des besoins.

On a eu soin de les stériliser une fois remplis en les mettant à l'étuve à 58° pendant au moins une heure.

Examinons tout d'abord ce que deviennent au point de vue microscopique ces cultures de bacille charbonneux dans du bouillon additionné de toxine pyocyanique.

Au bout de 24 heures et pendant 2 ou 3 jours, nous re-

trouvons dans ces cultures, à côté des bacilles normaux, les bacilles granuleux et décolorés déjà signalés dans les cultures mixtes de pyocyanique et de charbon.

Mais à partir du quatrième jour, les cultures présentent le même aspect que les cultures en bouillon ordinaire, avec cette particularité cependant que les spores s'y forment beaucoup moins facilement. Enfin si après un repiquage, on les examine à nouveau, on constate les caractères des cultures simples, avec toutes leurs propriétés, la virulence étant récupérée.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE

Culture de *2 jours* de charbon, dans 2 centimètres cubes de bouillon contenant *2 gouttes* de toxine pyocyanique de 2 jours.

Injecté à la dose de 1 c. c. sous la peau.

1 cobaye meurt en *3 mois 1/2*. Immédiatement on cherche à inoculer un autre cobaye avec le sang du cœur de cet animal ; on fait des cultures. Le sang comme la culture restent stériles. L'examen ne montre pas de bacilles à aucun moment.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE

Culture de *2 jours* de charbon dans 2 centimètres cubes de bouillon, contenant *10 gouttes* de toxine pyocyanique de 2 jours.

1/2 c. c. sous la peau.

1 cobaye de 500 grammes meurt en 18 jours. Sang et organes stériles.

TROISIÈME EXPÉRIENCE

Culture de *2 jours* de charbon dans 2 c. c. de bouillon contenant *10 gouttes* de toxine pyocyanique de 15 jours.

1 centimètre cube sous la peau,

1 cobaye meurt en 2 mois 1/2. Il présente de la péricardite, de l'ascite ; mais le sang et les organes sont stériles.

QUATRIÈME EXPÉRIENCE

Culture de *2 jours* de charbon en bouillon contenant *10 gouttes* de toxine pyocyanique de 20 jours pour 2 c. c.

1 centimètre cube sous la peau.

1 cobaye de 330 grammes meurt en 3 jours.

L'examen montre la rate, l'œdème, le sang du cœur bourrés de microbes. Les cultures tuent un autre cobaye en 40 heures avec charbon.

CINQUIÈME EXPÉRIENCE

Culture de *2 jours* de charbon en bouillon contenant *10 gouttes* de toxine pyocyanique de 15 jours pour 2 c. c.

1/2 centimètre cube sous la peau.

1 cobaye résiste. Sacrifié longtemps après, le sang reste stérile. Pas de microbes à l'examen microscopique.

SIXIÈME EXPÉRIENCE

Culture de *8 jours* de charbon, en bouillon contenant *10 gouttes* de toxine pyocyanique de 15 jours pour 2 c. c.

1/2 c. c. sous la peau.

1 cobaye de 365 grammes meurt en 3 jours avec toutes les lésions du charbon. Bacilles partout.

SEPTIÈME EXPÉRIENCE

Culture de *13 jours* de charbon, en bouillon contenant *10 gouttes* de toxine pyocyanique de 20 jours pour 2 c. c.

3 gouttes sous la peau.

1 cobaye de 325 grammes meurt en 4 jours ; bacilles dans le sang et les organes.

Discussion. — Pour résumer ces expériences, 3 animaux sont morts charbonneux, 3 autres ont résisté entre 18 jours et 3 mois 1/2 ; un autre a résisté définitivement.

Il est intéressant de constater que ce dernier et ceux qui ont résisté quelque temps ont été inoculés avec des cultures jeunes. Ceci semble concorder avec l'examen microscopique, qui montre, comme je viens de le signaler, que dans les cultures plus âgées, le bacille semble prendre le dessus, et triompher de l'action de la toxine.

Il y a comme un acclimatement du charbon.

La présence de la toxine pyocyanique dans les bouillons de culture charbonneuse a donc la propriété de les atténuer, au moins pour un temps.

Mais en serait-il de même si on injectait cette toxine aux animaux ? Il est *a priori* permis de le croire ; l'organisme animal se comportant dans la plupart des cas comme un bouillon de culture.

Toutes les recherches suivantes ont été instituées dans ce but.

CHAPITRE III

Toxine pyocyanique injectée préventivement

Ainsi nous sommes amenés à injecter la toxine pyocyanique aux animaux pour essayer d'en tirer un pouvoir préventif.

Les animaux choisis furent le cobaye et le lapin; et nous avons fait ainsi deux séries d'expériences parallèles.

A. — Cobaye.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE

N.-B. — Cette expérience et les suivantes ont été effectuées avec un bacille tiré des eaux de la Loire, et dont M. le Dr Fortineau a bien voulu nous fournir les cultures.

2 c. c. de toxine d'un pyocyanique de la Loire (toxine de *15 jours*) ont été injectés sous la peau d'un cobaye de 400 grammes; *6 heures* après, 1/2 c. c. de culture charbonneuse de 2 jours, inoculés sous la peau dans un endroit différent.

Résultat nul; le cobaye meurt charbonneux en 3 jours.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE

2 c. c. de la même toxine et du même âge sont inoculés sous la peau de 2 cobayes beaucoup plus forts (poids

600 grammes); *6 heures* après, 1/2 c. c. de culture de charbon de 2 jours, sous la peau dans un endroit différent;

Résultat identique, mort en 3 jours et 3 jours 1/2 des 2 cobayes; charbon partout.

TROISIÈME EXPÉRIENCE

Devant ces mauvais résultats, on augmente la dose de toxine, on diminue la dose de charbon.

5 c. c. de toxine sont injectés; *8 heures* après, 1/2 c. c. de culture de charbon de 2 jours sous la peau du côté opposé : meurt en 3 jours charbonneux.

QUATRIÈME EXPÉRIENCE

8 c. c. de toxine de 15 jours sont injectés sous la peau ; *2 jours après*, 1/2 c. c. de culture charbonneuse sous la peau du même côté; le cobaye meurt en 2 jours 1/2 charbonneux, comme tous les autres.

CINQUIÈME EXPÉRIENCE

12 c. c. de toxine de 15 jours sont injectés sous la peau d'un cobaye; *6 heures* après, *3 gouttes seulement* de culture charbonneuse sous la peau du même côté.

L'animal meurt en 3 jours charbonneux.

SIXIÈME EXPÉRIENCE

Pour varier, et en quelque sorte pour exagérer la dose préventive de toxine, on en fait *ingérer* à un cobaye une

dose moyenne de 5 c. c. par jour, et ce pendant 15 jours. Un mois après, on lui inocule 1/2 c. c. de culture de charbon de 2 jours sous la peau.

Il meurt tout de même charbonneux en 3 jours 1/2.

Discussion. — La conclusion s'impose : il est inutile d'essayer des inoculations préventives pour la maladie charbonneuse chez le cobaye. Il est à croire que l'animal affaibli par le poison pyocyanique perd toute résistance au charbon et s'il y a un antagonisme comme les premières expériences le prouvent et comme aussi le prouveront les suivantes, cet antagonisme est entre les toxines seulement; l'une détruit l'autre, au sens physiologique du mot, elle annihile ses effets.

B. — Lapin.

Toxine d'un pyocyanique extrait des eaux de la Loire.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE

10 c. c. de toxine de 15 jours sont inoculés sous la peau d'un lapin; *24 heures* après, *8 gouttes* de culture de charbon de 2 jours sous la peau du côté opposé.

Meurt en 3 jours charbonneux.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE

Même expérience, faite de façon identique à la première. A noter seulement que les inoculations ont été faites toutes deux au même endroit.

Ce lapin résiste indéfiniment.

Sauf donc pour ce dernier animal les injections préventives ont absolument échoué.

CHAPITRE IV

Pouvoir curatif de la toxine pyocyanique vis-à-vis de la maladie charbonneuse

a) Tous les animaux sont inoculés avec des cultures ordinaires de charbon.

A. — Cobaye.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE

1/2 c. c. de culture charbonneuse est injectée sous la peau d'un cobaye; *7 heures après*, *2 c. c.* de toxine du même pyocyanique de la Loire dont il a été déjà question (toxine de 15 jours) sont injectés sous la peau du côté opposé.

Le cobaye résiste.

DEUXIÈME ET TROISIÈME EXPÉRIENCES

Même façon de procéder, Les 2 cobayes sont seulement inoculés 24 et 30 heures après la première inoculation.

Résistent également.

B. — Lapin.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE

8 gouttes de culture charbonneuse de 2 jours sont injectés sous la peau d'un lapin ; 7 heures après, 5 c. c. de

toxine de pyocyanique de la Loire de 15 jours sous la peau du côté opposé.

Meurt en 3 jours, charbonneux.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE

Même expérience, mais on a doublé la dose de toxine ; les inoculations ont encore été faites sous la peau de chaque côté.

Mort en 4 jours.

TROISIÈME EXPÉRIENCE

Même expérience. On revient à la dose primitive de toxine : 5 c. c.; mais l'animal reçoit les 2 inoculations à 7 heures d'intervalle *du même côté.*

Il résiste.

QUATRIÈME EXPÉRIENCE

7 lapins sont inoculés sous la peau. Chacun reçoit d'abord *8 gouttes* de culture charbonneuse de 2 jours; *7 heures après* et au *même point,* 5 c. c. d'une des toxines pyocyaniques suivantes, âgées de 15 jours.

1° Race A
2° Race P
3° Race S
4° Race F
5° Race Noire
} de l'Institut Pasteur de Paris
6° Pyocyanique des eaux de la Loire
7° Pyocyanique isolé d'un cheval.

(Ces deux derniers fournis par le laboratoire de Bactériologie de l'Ecole de Nantes).

Le seul lapin injecté avec la toxine race noire, (le lapin n° 5) succombe en 3 jours au charbon.

Au bout de *6 mois* tous les autres sont bien portants.

Le lapin injecté avec la toxine du pyocyanique de la Loire a seulement perdu un peu de son poids sous l'influence de cette toxine.

Discussion. — En somme, ici, les résultats sont singulièrement encourageants, puisque nous avons pour les cobayes deux guérisons pour deux animaux et pour les lapins 8 guérisons contre deux morts par charbon.

b) Tous les animaux sont inoculés avec la toxine pyocyanique et du sang ou des cultures provenant d'animaux charbonneux.

La toxine se montre-t-elle aussi énergique vis-à-vis des produits charbonneux ou des cultures provenant directement d'animaux charbonneux ?

C'est ce que nous allons examiner maintenant.

A. — Cobaye.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE

1/2 c. c. de culture charbon provenant d'un animal charbonneux est inoculé sous la peau d'un cobaye puis 2 c. c. de toxine pyocyanique race P de 15 jours au même endroit.

L'animal meurt en 3 jours avec du charbon.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE

1/2 c. c. de culture charbon provenant d'un animal est injecté sous la peau d'un cobaye : 24 heures après, 2 c. c. de toxine pyocyanique race A de 15 jours au même endroit.

Meurt en 3 jours avec charbon.

TROISIÈME EXPÉRIENCE

3 gouttes de sang charbonneux sont injectées sous la peau de 2 cobayes inoculés en même temps et au même point avec 2 c. c. de toxine de pyocyanique Loire de 15 jours.

Meurent en 3 jours, charbonneux.

QUATRIÈME EXPÉRIENCE

Même expérience que la précédente. Mais la toxine a été injectée seulement 24 heures après.

Mort en 3 jours, avec charbon.

B. — LAPIN.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE

8 gouttes de culture provenant de culture d'un animal charbonneux, et âgée de deux jours sont injectées sous la peau d'un lapin : en même temps 8 c. c. de toxine d'un pyocyanique de la Loire de 15 jours sont injectés dans les veines.

Meurt en 4 jours charbonneux.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE

8 gouttes de la même culture sont injectées sous la peau d'un lapin ; en même temps, on injecte 5 c. c. de toxine race P sous la peau et au même point.

Meurt en 4 jours, charbonneux.

TROISIÈME EXPÉRIENCE

8 gouttes de la même culture sont injectées sous la peau d'un lapin ; 7 heures après, 5 c. c. de toxine d'un pyocyanique de la Loire sont injectés au même point.

Même résultat. Mort en 4 jours 1/2.

QUATRIÈME EXPÉRIENCE

3 grammes de sang charbonneux sont injectés sous la peau d'un lapin ; en même temps et au même point, 5 c. c. de la toxine précédente.

Mort en 4 jours charbonneux.

DISCUSSION. — Ainsi, en ce qui concerne le lapin et le cobaye, la toxine pyocyanique est impuissante contre le sang charbonneux ou les cultures provenant d'un animal.

Mais nous avons pensé à inoculer des chiens, et cherché à obtenir vis-à-vis des chiens rendus charbonneux *par des produits charbonneux* des guérisons :

Voici quels ont été jusqu'ici les résultats obtenus.

Tout d'abord les chiens proviennent de la fourrière

municipale. Les premières expériences portent sur 3 chiens que nous désignons par les numéros 1, 2 et 3.

Le chien numéro 1 est un dogue pesant 11 kg 275 au moment de l'expérience. Il est âgé de 3 ans.

Le chien numéro 2 est un chien vulgaire, de race quelconque et bâtardée. Il est jeune (âge 18 mois), chien noir à poil ras. Poids 6 kg 150.

Le chien numéro 3, noir et jaune et grands poils, pèse 7 kg 250. Age 2 ans. Race carlin.

Nous noterons que tous ces renseignements concernant l'âge et la race ont été fournis par un vétérinaire, lequel les a en outre déclarés absolument sains sous tous les rapports (rage comprise, bien entendu).

Avant de commencer ces expériences, ces chiens ont été soigneusement nourris (nous rappelons qu'ils sortent de la fourrière, c'est-à-dire considérés comme chiens errants).

Le chien numéro 2, le plus jeune et le plus faible comme poids fut inoculé avec 1 c. c. de culture charbonneuse le 20 mai 1908, à 2 heures de l'après-midi.

Le chien numéro 3, âge et poids moyens, fut inoculé de la même façon, sous la peau du ventre, avec la même culture et la même dose. Il reçut en outre immédiatement *mais du côté opposé*, 20 c. c. de toxine pyocyanique.

Enfin le chien numéro 1, le plus âgé et le plus lourd, supposé *a priori* comme le plus résistant reçut le même jour 2 c. c. 1/2 de culture charbonneuse, Puis, *mais seulement 24 heures* après, 20 c. c. de la même toxine pyocyanique.

En somme le plus faible fut pris comme simple témoin et le plus vigoureux ne fut traité que 24 heures avec la toxine.

Mais de quelle culture et de quelle toxine nous sommes nous servis ?

La culture provenait du quatrième passage d'un animal charbonneux, soit une culture de charbon. Nous l'inoculons à un cobaye : mort en 3 jours. Le sang du cœur de ce cobaye est inoculé directement (10 gouttes) à un deuxième cobaye qui meurt en moins de 3 jours. Le sang du cœur du second est inoculé à un troisième qui meurt en 48 heures. Le sang du cœur du troisième est inoculé à un quatrième qui meurt en 30 heures. On cultive ce sang et la culture de 48 heures est inoculée à tous les chiens à la dose indiquée ci-dessus.

Connaissant la résistance des chiens au charbon, nous avons exagéré la virulence du charbon par 4 passages.

Quant à la toxine, un pyocyanique race A a été cultivé 21 jours à l'étuve. La culture a été filtrée et mise à l'étuve pendant 1 heure à 58°. Les chiens numéros 3 et 1 en ont reçu 20 c. c. comme il a été dit.

Puis les 3 chiens ont été mis en observation et voici les résultats obtenus :

Au bout de 24 heures, les chiens sont maussades, hargneux tous les trois. Ils refusent toute nourriture ; nous prenons leur température rectale. Elle indique 41°5, 41°5 et 41°4 (sensiblement la même pour le témoin et les deux autres).

Le lendemain, la température baisse. Les 3 chiens marquent 39°5. Ils ont recouvré leur vivacité et leur... voix.

Le surlendemain, la température baisse encore. Nous trouvons seulement 38°5 (chien n° 2), 38°1 (chien n° 1) et 38° (chien n° 3).

La température est seulement un peu plus élevée chez le témoin.

Puis la température baisse encore et, au bout de 20 jours, tant le témoin que les chiens injectés avec du pyocyanique paraissent complètement rétablis.

Ainsi 3 chiens pesant entre 6 et 11 kilos ont résisté à des doses variant de 1 à 2 1/2 c. c. de culture provenant de cobayes charbonneux.

L'expérience est considérée comme nulle et la dose de charbon comme insuffisante.

Nous avons le dessein de poursuivre et d'étendre ces expériences. Mais ayant été entraînés à une date trop avancée, nous ne pourrons en publier les résultats que plus tard.

Nous augmenterons tout d'abord la virulence du charbon en allant jusqu'au 14e passage et la dose injectée sera un peu supérieure, jusqu'à ce que nous obtenions au moins la mort des témoins.

CHAPITRE V

Résistance à la maladie charbonneuse des animaux vaccinés contre le bacille pyocyanique

Il nous reste maintenant cette dernière question à examiner.

A. — Cobaye.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE

Un cobaye reçoit sous la peau tous les jours, à 4 reprises différentes, 2 c. c. de toxine pyocyanique de la Loire de 15 jours; 4 jours après la dernière injection 1/2 c. c. de charbon sous la peau.

Meurt en 3 jours charbonneux.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE

Même expérience avec inoculation de 3 gouttes seulement de charbon. — Même résultat.

TROISIÈME EXPÉRIENCE

Même expérience. Les inoculations de toxine n'ont été répétées que 3 fois. — Même résultat.

B. — Lapin.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE

Un lapin vacciné contre le bacille pyocyanique par

4 injections de toxine est inoculé 2 mois après la dernière sous la peau avec 8 gouttes de culture charbonneuse.

Résiste.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE

Un lapin préparé de la même façon, reçoit 5 mois 1/2 après la dernière 1/2 c. c. de culture charbonneuse *dans le péritoine*. 7 heures après, le péritoine est stérile; l'exsudat péritonéal est riche en leucocytes, mais les microbes ont disparu. Ensemencé, la culture reste stérile.

Le lapin *résiste*.

TROISIÈME EXPÉRIENCE

Un lapin, préparé de la même façon, est inoculé 3 jours après la dernière injection de toxine avec 1/2 c. c. de culture charbonneuse sous la peau. Il meurt amaigri, mais sans charbon en 4 mois.

QUATRIÈME EXPÉRIENCE

Un lapin, vacciné de la même façon, reçoit 2 mois 1/2 après 8 gouttes de culture charbonneuse sous la peau.

Meurt charbonneux en 4 jours.

Résultats. — Cette expérience qui ne donne aucun résultat chez le cobaye, est intéressante pour le lapin, puisqu'elle nous donne 3 guérisons sur 4 animaux inoculés.

CONCLUSIONS

Nous pouvons en terminant résumer le résultat de ces expériences de la façon suivante :

1° Les cultures mixtes de charbon et de pyocyanique présentent une virulence atténuée au point de vue du charbon, et une atténuation morphologique du bacille.

2° Les cultures charbonneuses dans du bouillon additionné de toxine se comportent comme les précédentes; leur virulence au point de vue du charbon semble cependant plus forte.

3° Une injection de toxine précédant l'inoculation du charbon de quelques heures à 2 jours est impuissante à entraver son action chez le cobaye et le lapin.

4° LES TOXINES DES DIVERSES RACES POSSÈDENT UN POUVOIR CURATIF CONTRE LE CHARBON; inoculés 7 heures et même 24 heures après chez le lapin et le cobaye.

Mais ce pouvoir curatif n'est pas suffisant pour guérir des animaux inoculés avec du sang charbonneux ou des cultures provenant directement de l'animal.

5° LES LAPINS VACCINÉS CONTRE LE PYOCYANIQUE SONT RÉFRACTAIRES AU CHARBON, même inoculés dans le péritoine, alors que cette tentative n'a rien donné chez le cobaye.

L'action curative de la toxine pyocyanique nettement constatée, corrobore l'opinion des auteurs anglais à ce sujet, mais il est intéressant de constater qu'une dose faible de toxine (2 c. c. pour le cobaye et 5 c. c. pour le lapin) est suffisante pour guérir l'animal, alors que Woodhead inoculait des doses massives et répétait cette injection pendant plusieurs jours.

Nous avons constaté l'action curative de toutes les races de bacille pyocyanique que nous avions entre les mains, car il était permis de penser que la dissemblance des résultats obtenus par M. Bouchard d'un côté, les auteurs anglais et nous de l'autre, tenait à ce que nous n'avions pas employé la même race.

La question de l'âge de la toxine entre-t-elle en jeu? C'est possible, car nous n'avons pas pu savoir quel était celui de la toxine employée par M. Bouchard.

Peut-être ces données seraient-elles susceptibles d'application dans le cas de charbon spontané chez l'animal, étant donné la faible toxicité des produits du bacille pyocyanique.

« En effet, si la vaccination charbonneuse a fait ses « preuves, la question du traitement du charbon reste « encore à l'étude, car les différents sérums anticharbon-

« neux préconisés (1), bien que présentant des propriétés « préventives et curatives pour les animaux n'ont pas « encore acquis droit de cité dans la thérapeutique, au « même titre que d'autres sérums actuellement employés. »

Besredka.

Vu : Le Président de la Thèse,
ROGER

Vu : Le Doyen,
LANDOUZY.

Vu et permis d'imprimer :
Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,
LIARD.

---

(1) Marchoux. — *Serum anticharbonneux*. (Soc. Biologie 1895). (Ann. Institut Pasteur 1895).

Sclavo. — *Sullo stato presente della serokerapia anticarbonchina*. (Atti degli R. Academia de Fisiocritie di Siena 1903).

Parme et Trapini. — *Sulla Sierotierapia vell sufezione carbonchina dei Conigli*. (Rivista clinica et therapeutica 1896).

San Felice. — *Recherches par l'action du serum anticharbonneux du chien*. (B. de l'Inst. Pasteur 1903).

Pagliani. — *Les résultats du traitement du charbon par le serum de Sclavo*. (Giornale di R. Academia di Med. di Torino 1903).

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
Avant-propos	11
Historique	13
Plan	17
Chapitre I. — Inoculations de cultures combinées	19
Chapitre II. — Cultures de charbon dans la toxine pyocyanique	23
Chapitre III. — Toxine pyocyanique injectée préventivement	29
Chapitre IV. — Ponvoir curatif de la toxine pyocyanique vis-à-vis de la maladie charbonneuse	33
Chapitre V. — Résistance à la maladie charbonneuse des animaux vaccinés contre le bacille pyocyanique	41
Conclusions	43